

JP 00/8386 日本国特許庁

29.11.00

PATENT OFFICE  
JAPANESE GOVERNMENT

REC'D 15 DEC 2000

WIPO PCT

4  
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日

Date of Application:

1999年11月30日

出願番号

Application Number:

平成11年特許願第339330号

出願人

Applicant (s):

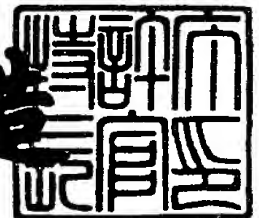
株式会社光ケミカル研究所

**PRIORITY  
DOCUMENT**SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a)OR(b)

2000年11月 6日

特許庁長官  
Commissioner,  
Patent Office

及川耕造



出証番号 出証特2000-3092345

【書類名】 特許願  
 【整理番号】 PCC138  
 【あて先】 特許庁長官殿

【発明者】

【住所又は居所】 岡山県笠岡市小平井 1 7 7 6 番地の 4

【氏名】 阪田 功

【発明者】

【住所又は居所】 北海道旭川市緑ヶ丘 5 条 4 丁目 4 番地の 3 4

【氏名】 中島 進

【発明者】

【住所又は居所】 岡山県岡山市藤原西町 2 丁目 2 番 3 5 - 3 号

【氏名】 仲証 良則

【特許出願人】

【識別番号】 399115781

【氏名又は名称】 株式会社光ケミカル研究所

【代理人】

【識別番号】 100083301

【弁理士】

【氏名又は名称】 草間 攻

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 053958

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9911440

【プルーフの要否】 要

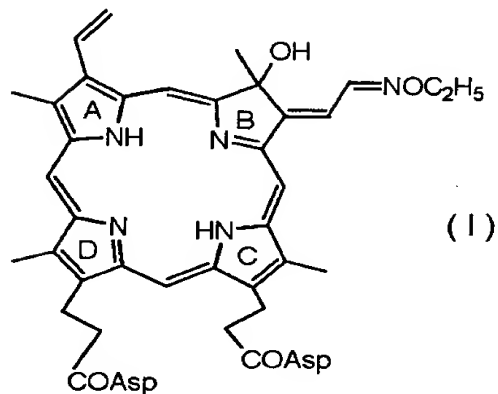
【書類名】 明細書

【発明の名称】 ポルフィリン化合物

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 次式 (I) :

【化 1】



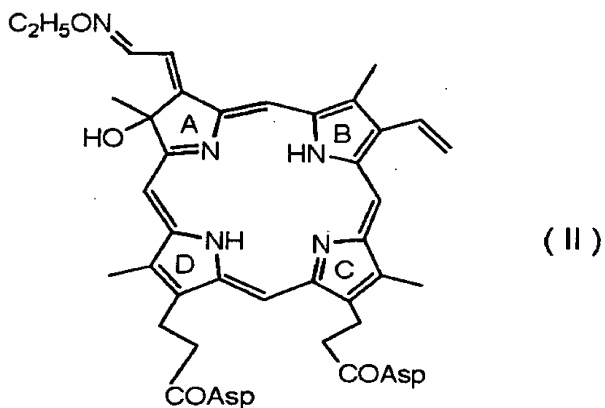
(式中、A s p は、アスパラギン酸残基を表す。) で示される、動物用の光物理化学的診断および／または治療用に使用されるポルフィリン化合物またはその薬理的に許容される塩。

【請求項 2】 請求項 1 に記載の式 (I) で示されるポルフィリン化合物またはその薬理的に許容される塩を有効成分とする、動物用の光物理化学的診断および／または治療剤。

【請求項 3】 動物の腫瘍の診断および／または治療に使用される請求項 2 に記載の光物理化学的診断および／または治療剤。

【請求項 4】 次式 (II) :

【化 2】



(式中、Aspは、アスパラギン酸残基を表す。)で示される、動物用の光物理化学的診断および／または治療用に使用されるポルフィリン化合物またはその薬理学的に許容される塩。

【請求項5】 請求項4に記載の式(II)で示されるポルフィリン化合物またはその薬理学的に許容される塩を有効成分とする、動物用の光物理化学的診断および／または治療剤。

【請求項6】 動物の腫瘍の診断および／または治療に使用される請求項5に記載の光物理化学的診断および／または治療剤。

【請求項7】 請求項1に記載の式(I)および請求項4に記載の式(II)で示されるポルフィリン化合物またはその薬理学的に許容される塩の混合物を有効成分とする、動物用の光物理化学的診断および／または治療剤。

【請求項8】 動物の腫瘍の診断および／または治療に使用される請求項7に記載の光物理化学的診断および／または治療剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、ポルフィリン化合物に関し、特に動物用の光物理化学的診断および／または治療用に使用されるポルフィリン化合物、またはその薬理学的に許容される塩に係り、さらに当該ポルフィリン化合物を有効成分とする動物用の光物理化学による、特に腫瘍の診断および／または治療剤に関する。

【0002】

【従来の技術】

癌の新しい治療法として、最近、光物理化学的診断・治療法(PDT: Photodynamic Therapy)が脚光を浴びてきている。これは、ある種のポルフィリン誘導体を、静脈注射などの方法により投与し、癌細胞に選択的に集積させた後、レーザー光を照射することにより、癌細胞のみを破壊するというものであり、ポルフィリン誘導体が有する癌細胞への選択性と光増感作用という二つの性質を利用した療法である。

【0003】

現在このPDTに臨床的に使用されている唯一のポルフィリン誘導体は、ポルフィマーナトリウムである。しかしながら、このポルフィマーナトリウムはヘマトポルフィリン誘導体のエーテル体および／またはエステル体からなる2～6量体のポリマーとしての混合物であり、人体に投与した場合に、副作用として一時的な光過敏症を引き起こすことが知られており、また、ポルフィマーナトリウムの癌細胞への選択性はいまだ十分なものとはいえず、正常細胞への集積性も認められている。

#### 【0004】

したがって、投与を受けた患者は、正常細胞に集積したポルフィマーナトリウムによる光増感作用で正常細胞が破壊されないように、それが体内に排泄されるまで、長時間に渡って暗所に留まることが必要である。この場合、ポルフィマーナトリウムの正常細胞からの排出速度が遅いため、時として6週間以上にも渡って光過敏症が残ることが報告されている。

#### 【0005】

加えて、ポルフィマーナトリウムによるPDTでは、使用されるレーザー光の組織透過性についても問題が内在している。すなわち、ポルフィマーナトリウムは、その最長波長吸収端が630nmであり、モル吸光係数も3,000と低いものである。生体にはオキシヘモグロビンや水のように光の透過を妨げる成分が多く存在し、この630nmのレーザー光では組織への透過性が悪く、深部まで十分透過しないことによりポルフィマーナトリウムを使用したPDTの対象は、5～10mmの表層癌に限定されている。

#### 【0006】

生体成分の光吸収による影響が最も少ない波長は、650～750nmであることからみれば、この波長間に最長波長吸収端をもつPDT用光増感剤が最も好ましいものといえる。

#### 【0007】

一方、レーザー装置についても種々の問題がある。現在最もよく使用されている色素レーザーは、レーザー光自体の安定性が悪く、運用上取り扱いが難しい。これに対してチタンサファイアレーザーを用いれば、運用がかなり簡単にはなる

が、このレーザーを使用する場合には励起可能な波長が670nm以上および600nm以下に限られており、630nm付近に吸収波長をもつポルフィマーナトリウムには適用できない。

【0008】

最近、半導体レーザー（670nm）が開発され、670nm付近に吸収をもつ化合物にも適用できるようになり、さらに最近になってOPO-YAGレーザーが開発され、ほとんどの可視波長をカバーできることがわかっている。

【0009】

このように、現在使用されているPDT用光増感剤には種々の問題点があり、これらの問題点を解決した、新しい薬剤の開発が強く望まれており、その結果、単一化合物であり、かつ、より長波長領域（650～800nm）に吸収をもつ化合物が第二世代の薬物として提案されてきている。

【0010】

このような第二世代の薬物としては、プロトポルフィリン前駆体であるアミノレブリン酸（ALA）、クロリン誘導体としてアスパルチルクロリンe6（NPe6）、血色素由来のポルフィリンから構造変換された新規クロリン誘導体としてのベンゾポルフィリン誘導体（BPD）、ならびにメタテトラヒドロキシフェニルクロリン（m-THPC）などである。

【0011】

本発明者らも先に、クロリン誘導体とそのアナログ体であるアルコキシミノクロリンアスパラギン酸誘導体を提案（特開平5-97857号、特開平9-124652号）してきており、これらの化合物は、PDT用の光増感剤として有効なものであることを確認している。

【0012】

ところで、哺乳類については、ヒトに限らず動物の世界でも癌に対する罹患が問題となり、特に家庭内で飼育されるペット動物における癌が大きな問題となつつある。これら動物における癌の治療は、ヒトに対する治療法と変わるところがなく、抗癌剤の投与、放射線療法などの治療が行われている。

【0013】

かかる現状を踏まえ、本発明者らは動物に対する効果的な癌治療法の検討を進めた結果、先に提案したアルコキシイミノクロリンアスパラギン酸誘導体の中でも、特にエトキシイミノクロリンアスパラギン酸誘導体が、動物用の P D T 用光増感剤として極めて有効なものであることを確認し、本発明を完成させるに至った。

【 0 0 1 4 】

【発明が解決しようとする課題】

したがって本発明は、特に動物用の光物理化学的診断および／または治療用に使用されるポルフィリン化合物を提供することを課題とし、またさらに、当該ポルフィリン化合物を有効成分とする動物用の光物理化学による診断および／または治療剤、特に動物の腫瘍の診断および／または治療剤を提供することを課題とする。

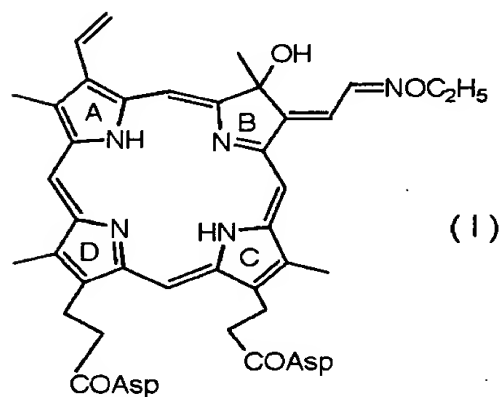
【 0 0 1 5 】

【課題を解決するための手段】

かかる課題を解決するために、本発明は、その一態様として、次式 ( I ) :

【 0 0 1 6 】

【化 3】



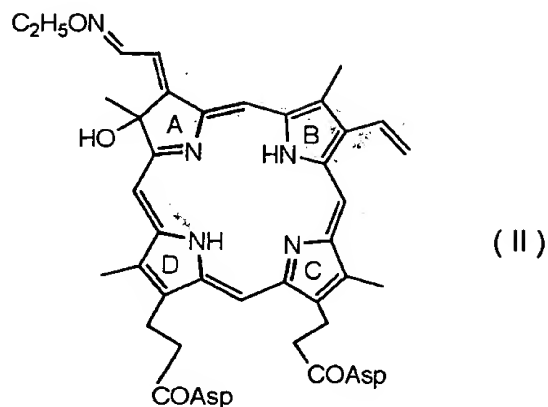
【 0 0 1 7 】

(式中、A s p は、アスパラギン酸残基を表す。) で示される、動物用の光物理化学的診断および／または治療用に使用されるポルフィリン化合物またはその薬理学的に許容される塩を提供する。

【 0 0 1 8 】

また、本発明は、別の態様として、次式（I I）：

【化 4】



（式中、A s p は、アスパラギン酸残基を表す。）で示される、動物用の光物理化学的診断および／または治療用に使用されるポルフィリン化合物またはその薬理的に許容される塩を提供する。

【0019】

本発明は、さらに別の態様として、上記式（I）または上記式（I I）で表されるポルフィリン化合物またはその薬理的に許容される塩のそれぞれ、あるいは両者の混合物を有効成分とする、動物用の光物理化学的診断および／または治療剤を提供する。

【0020】

本発明はそのなかでも、より具体的な態様として、動物の腫瘍の診断および／または治療に使用される上記式（I）または上記式（I I）で表されるポルフィリン化合物またはその薬理的に許容される塩を有効成分とする動物用の光物理化学的診断および／または治療剤を提供する。

【0021】

本発明が提供する上記式（I）あるいは式（I I）のポルフィリン化合物は、単一成分であり、安定かつ腫瘍組織に対する良好な集積性を維持したまま、正常組織からの排出速度が速く、したがって光毒性を低減させ、しかもチタンサファイヤレーザー（670 nm以上および600 nm以下の波長）ならびに半導体レーザー（670 nm）の使用が可能なものである点に特徴を有する。

【0022】

また、本発明者の一人が法則性を見出したアルブミンテスト（クロリン誘導体とアルブミンの混合物における紫外線吸収スペクトルの動向を判定し、癌への親和性を簡単に測定する方法）およびダンシルメチオニンテスト（薄層クロマトグラフィーや高速液体クロマトグラフィーにより光に対する反応の強弱を簡単に評価する方法；特開平5-97857号）により、上記式（I）ポルフィリン化合物を評価したところ、強い腫瘍組織への移行性、光増感作用を有することが確認できた。

## 【0023】

## 【発明の実施の形態】

本発明が提供する式（I）あるいは式（II）で示されるポルフィリン化合物は、以下のようにして製造される。

すなわち、プロトポルフィリン ジメチルエステル（以下、「PP-Me」と略記する場合もある）を原料とし、このPP-Meに対して、アルデヒド基を有するクロリン誘導体に変化するクロリン化工程（a）を行い、次いで、得られたクロリン誘導体のアルデヒド基に、O-エチルヒドロキシルアミンを縮合させ、O-エチルイミノ基を導入する工程（b）に付した後、アスパラギン酸をアミド結合させる工程（c）を順次実施することにより製造することができる。

## 【0024】

この場合において、工程（b）と工程（c）の順序は必ずしもこの順で行う必要はなく、先に工程（c）のアスパラギン酸との縮合によりアミド結合させる工程（工程c）を行った後、アルデヒド基に、O-エチルヒドロキシルアミンを縮合させてO-エチルイミノ基を導入する工程（b）を行っても、目的とするポルフィリン化合物を効率よく製造することが可能である。

## 【0025】

以下に、各工程を詳細に説明する。

まず、最初のクロリン化工程（a）は、J. E. Falk著 [Porphyrins and Metalloporphyrins] (Elsevier発行、1975年) およびD. Dolphin著 [The Porphyrins] (Academic Press発行、1978年) 等に記載されている慣用

手段により行うことができる。

【 0 0 2 6 】

すなわち、クロリン化工程（a）においては、P-P-Meを、光反応処理に付すことによって、7-ヒドロキシ-8-オキソエチリデン-プロトポルフィリンジメチルエステル（以下、「P-Me（I）」と略記する場合もある）、および、4つテトラピロール環のうち、A環およびB環における側鎖官能基の位置異性体である、2-ヒドロキシ-3-オキソエチリデン-プロトポルフィリンジメチルエステル（以下、「P-Me（II）」と略記する場合もある）の混合物に変換する。

【 0 0 2 7 】

この混合物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーまたは適当な溶媒を用いる再結晶法により分離・精製し、P-Me（I）およびP-Me（II）をそれぞれ得た。なお、この段階でP-Me（I）およびP-Me（II）の両者をそれぞれ分離することなくそのまま次の工程（b）へ付すことも可能である。

【 0 0 2 8 】

次いで、工程（b）は、例えば、上記で分離・精製されたP-Me（I）のアルデヒド基にO-エチルヒドロキシルアミン塩酸塩を反応させて、O-エチルイミノ基を導入する。この反応は、一般有機化学実験書中〔ヒドロキシルアミンとアルデヒド化合物との縮合反応〕に記載された通常の方法により行うことができる。

【 0 0 2 9 】

例えば、反応に関与しない適当な溶媒中で、水酸化アルカリ、アルカリ金属炭酸化物等の無機塩基、あるいはピリジン、ピペリジンのような有機塩基の縮合剤の存在下に反応を行うことで、容易に目的とするO-エチルイミノ基を導入することができる。なかでも、ピリジン、ピペリジン等の有機塩基を、縮合剤ならびに反応溶媒として使用することにより、効率よく実施することができる。かくして目的とする7-ヒドロキシ-8-エトキシイミノエチリデン-プロトポルフィリンジメチルエステル（以下、「NOEt-P-Me（I）」と略記する場合もある）へ誘導される。

## 【0030】

なお、他の位置異性体である P-Me (II) も同様の方法により、O-エチルイミノ化し、目的とする 2-ヒドロキシ-3-エトキシイミノエチリデン-プロトボルフィリン ジメチルエステル (以下、「NOEt-P-Me (II)」と略記する場合もある) へ誘導される。

## 【0031】

次いで、工程 (c) により、例えば、上記で製造された NOEt-P-Me (I) は、常法によりアルカリ加水分解した後、アスパラギン酸エステル、例えば、アスパラギン酸メチルエステルあるいはアスパラギン酸ジメチルエステルを反応させてアミド結合化させ、アスパラギン酸誘導体担持のボルフィリン化合物へ誘導する。

## 【0032】

この反応は、泉屋ら著 [ペプチドの合成の基礎と実験] (丸善発行、1985 年) 等に記載された常套の方法により行うことができる。特に、特開昭 64-61481 号、特公平 7-25763 号、特開平 2-138280 号、特開平 4-59779 号、特開平 5-97857 号および特開平 9-124652 号等に記載された方法にしたがって実施すればよい。

## 【0033】

この反応は、要はボルフィリン化合物の側鎖にアスパラギン酸残基を導入するのであるから、ボルフィリン化合物の側鎖カルボキシル基と、アスパラギン酸のアミノ基との間で反応を進行させればよい。したがって、反応においては、ボルフィリン化合物の側鎖カルボキシル基および/またはアスパラギン酸のアミノ基を、常法により反応性置換基へ変換したり、あるいは両者に存在する反応に関与することが好ましくない官能基を適当に保護しておくことを、適宜考慮すべきである。

## 【0034】

なお、反応に際しては、適当な溶媒中で、適宜脱水剤や脱酸剤のような反応促進剤を存在させることができ、そのような反応促進剤としては、例えば、ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) や、水溶性カルボジイミド (WSC) を挙

げることができる。

【0035】

かくして、上記の反応により、例えば、NOEt-P-Me (I) は、アルカリ加水分解した後、アスパラギン酸ジメチルエステルとアミド結合化され、7-ヒドロキシ-8-エトキシイミノエチリデン-プロトポルフィリン ジアスパラギン酸ジメチルエステル（以下、「NOEt-P-Asp (OMe) (I)」と略記する場合もある）へ誘導される。

【0036】

なお、前記した工程 (b) で得られたNOEt-P-Me (II) も同様にアスパラギン酸ジメチルエステルとアミド結合化され、2-ヒドロキシ-3-エトキシイミノエチリデン-プロトポルフィリン ジアスパラギン酸ジメチルエステル（以下、「NOEt-P-Asp (OMe) (II)」と略記する場合もある）へ誘導される。

【0037】

次いで、上記で得られたNOEt-P-Asp (OMe) (I) あるいはNOEt-P-Asp (OMe) (II) を、例えばエタノールに溶解・懸濁させた後、例えば水酸化ナトリウム水溶液により加水分解を行い、本発明の目的化合物である式 (I) あるいは式 (II) のポルフィリン化合物のナトリウム塩を得ることができる。

【0038】

また、これらのナトリウム塩は、適当な弱酸で処理することにより、本発明の目的化合物である式 (I) あるいは式 (II) のポルフィリン化合物の遊離カルボン酸へ導くこともできる。

【0039】

かくして本発明のポルフィリン化合物として以下の化合物が提供される。

(1) 13, 17-ビス [(1, 2-ジカルボキシエチル) カルバモイルエチル] -3-エテニル-7-ヒドロキシ-8-エトキシイミノエチリデン-2, 7, 12, 18-テトラメチル-ポルフィリン（以下、「NOEt-P-Asp (I)」と略記する場合もある）、

(2) 13, 17-ビス [(1, 2-ジカルボキシエチル) カルバモイルエチル] -8-エテニル-2-ヒドロキシ-3-エトキシイミノエチリデン-2, 7, 12, 18-テトラメチル-ポルフィリン (以下、「NOEt-P-Asp (I)」と略記する場合もある)

#### 【0040】

本発明で提供されるポルフィリン化合物は、動物用の光物理化学的診断および/または治療用に使用される。この場合の製剤化は、自体公知の方法により行われ、本発明のポルフィリン化合物が遊離酸の場合には適当な緩衝液、あるいはナトリウム塩の場合には生理食塩水で溶解するだけで目的とする製剤を調製することができる。好適な添加剤としては、例えば医薬的に許容される溶解補助剤 (例えば有機溶媒)、pH調整剤 (例えば酸、塩基、緩衝液)、安定化剤 (例えばアスコルビン酸)、賦形剤 (例えばグルコース)、等張化剤 (例えば塩化ナトリウム) などを配合してもよい。

#### 【0041】

本発明のポルフィリン化合物はPDT用の光増感剤として必要十分な特性、すなわち、長燐光寿命、特定臓器、特に腫瘍に対する特異的集積性、ダンシルメチオニン評価による光殺細胞効果、吸収波長、水溶性、純度などを十分に満足しているものである。

#### 【0042】

本発明により提供されるポルフィリン化合物は、その良好な水溶性により、高濃度 (50 mg/ml) の製剤化を可能にし、また更に試験管内だけでなく、生体内においても高い安定性を発揮する。したがって、本発明の化合物を動物の光物理化学的診断および/または治療用に使用する場合には、一般に、PDT用光増感剤として、本発明の化合物を1 mg~10 mg/kg体重の量で投与するのが好ましい。

#### 【0043】

#### 【作用】

本発明が提供するポルフィリン化合物は、ポルフィリン骨格の側鎖にアミノ酸残基、特にアスパラギン酸残基を有し、さらにエトキシイミノ基を有する点に構

造上の特徴を有する。その結果、種々の生理学的もしくは薬理学的特性を発揮する。

【0044】

その特性として、腫瘍細胞に選択的に集積し、かつ腫瘍細胞からの排泄が遅いことが挙げられる。しかしながら、正常な臓器や細胞からは速やかに排泄されるため、それらに損傷を与えることはなく、光毒性の発現を回避することができる。また、ポルフィリンをクロリン誘導体とすることにより、吸収波長がレッドシフトし、これによって深部の腫瘍に対しても治療効果を発揮することが可能となった。したがって、本発明が提供するポルフィリン化合物は動物における癌、悪性腫瘍に対するPDT薬剤として極めて有用なものである。

【0045】

【実施例】

以下に本発明を実施例ならびに試験例により、更に詳細に説明する。

実施例1：

7-ヒドロキシ-8-オキソエチリデン-プロトポルフィリン ジメチルエステル [P-Me (I)] および位置異性体である2-ヒドロキシ-3-オキソエチリデン-プロトポルフィリン ジメチルエステル [P-Me (II)] の混合物の合成

【0046】

R. K. Dinelloらの方法 [The Porphyrins, Academic Press発行、Vol. 1, 303 (1978)] に準じて合成した。すなわち、プロトポルフィリン ジメチルエステル (P-Me) 100 g をクロロホルム10 Lに溶解し、光照射下一週間反応させることにより、ポルフィリンのクロリン誘導体を得た。反応終了後、反応液を減圧濃縮し、標記化合物の混合物を含む残渣100 gを得た。

【0047】

実施例2：

反応混合物からP-Me (I) およびP-Me (II) の分離

【0048】

上記実施例 1 で得た混合物を、ジクロルメタン-ヘキサン混合液で処理し、不溶物（原料の P-Me）を、シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付して除去した後、濾液を濃縮し、残渣を酢酸エチルにて再結晶し、さらにピリジン-ジクロルメタンにて再結晶し、目的とする 7-ヒドロキシ-8-オキソエチリデン-プロトポルフィリン ジメチルエステル [P-Me (I)] を得た。また、再結晶濾液から、位置異性体である 2-ヒドロキシ-3-オキソエチリデン-プロトポルフィリン ジメチルエステル [P-Me (II)] を得た。

【0049】

実施例 3 :

P-Me (I) と P-Me (II) の O-エチルイミノ化および加水分解

【0050】

上記実施例 2 で得られた P-Me (I) および P-Me (II) の各 10 g を別々に秤量し、ピリジン 190 ml に夫々溶解した。各溶液に O-エチルヒドロキシルアミン・塩酸塩 (3 g) を加え、50℃にて 1.5 時間反応させた。反応終了後、反応液を水中に注ぎ、結晶を析出させ、濾取し、水洗後乾燥を行い、目的とする O-エチルイミノ P-Me (I) [NOEt-P-Me (I)] および O-エチル P-Me (II) [NOEt-P-Me (II)] をそれぞれ定量的に得た。

【0051】

次いで、上記で得た NOEt-P-Me (I) および NOEt-P-Me (II) の全量を夫々別々にピリジンに溶解させ、各溶液に水酸化ナトリウム水溶液を加え、常法により加水分解を行った。反応終了後、反応液を中和し、析出した沈澱物を濾取し、水洗後乾燥し、さらに酢酸エチル-ヘキサン混合溶液にて精製を行い、目的とする NOEt-P (I) および NOEt-P (II) をそれぞれ定量的に得た。

【0052】

実施例 4 :

NOEt-P (I) および NOEt-P (II) のアスパラギン酸誘導化

【0053】

(a) 上記実施例 3 で得た  $\text{NOEt-P (I)}$  および  $\text{NOEt-P (II)}$  の各 2 g を別々に秤量し、それぞれをテトラヒドロフランに溶解させた後、ジシクロヘキシルアミン (DCHA) にて常法により DCHA 塩化し、ヘキサンにより洗浄し、DCHA 塩を得た。

【0054】

(b) 次いで、上記で得たそれぞれの DCHA 塩をジメチルホルムアミドに溶解し、アスパラギン酸ジメチルエステル ( $\text{AspOMe}_2$ ) の塩酸塩を加えた後、さらに水溶性カルボジイミド (WSC) を加え、反応を行った。反応の終点を TLC にて確認後、各反応液に水を加えて沈澱を析出させ、濾取後水洗し、風乾した。得られた沈澱物を酢酸エチル-アセトン混合溶液に溶解後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、精製後、エタノールより再結晶し、目的とする  $\text{NOEt-P-Asp (OMe) (I)}$  および  $\text{NOEt-P-Asp (OMe) (II)}$  を暗緑色結晶として得た。

【0055】

実施例 5 :

$\text{NOEt-P-Asp (I)}$  および  $\text{NOEt-P-Asp (II)}$  の製造

【0056】

上記の実施例 4 で得た  $\text{NOEt-P-Asp (OMe) (I)}$  および  $\text{NOEt-P-Asp (OMe) (II)}$  の各 1 g を別々に秤量し、それぞれをエタノールに溶解後、水酸化ナトリウム水溶液を加え、常法により加水分解を行った。反応終了後 (TLC にて反応終点を確認)、反応液にエタノールを加えて沈澱を析出させ、濾取した。得られた沈澱物を更に水に溶解させ、これにエタノールを加えて再沈澱を行い精製した。以上の操作により、 $\text{NOEt-P-Asp (OMe) (I)}$  からは、本発明の目的化合物である  $\text{NOEt-P-Asp (I)}$  のナトリウム塩を、また、 $\text{NOEt-P-Asp (OMe) (II)}$  からは、本発明の別の目的化合物である  $\text{NOEt-P-Asp (II)}$  のナトリウム塩を得た。MS : 955 ( $\text{M}^+$ )

【0057】

$\text{NOEt-P-Asp (I)}$  のナトリウム塩の赤外線吸収スペクトルを図 1 に

示す。

【0058】

実施例 6 :

組織集積性の評価

【0059】

結腸癌 Colon 26 癌細胞を移植した 14~21 日目の C3H/He マウス (1 群 5 匹) に注射用蒸留水にて溶解した NOEt-P-Asp (I) のナトリウム塩を 10 mg/kg 静注後、採血ならびに癌を含む各臓器を摘出し、得られた各器官に  $N_2$ -pulsed laser ( $N_2$ , 337 nm, 2 ns, 400~1,000 nm) を照射し、励起蛍光スペクトルを測定して、470 nm の NADH のピーク強度を基準として 600~900 nm の波長を検討した ( $N_2$ -PLS ( $N_2$ -pulsed laser spectrophotometry) の表面蛍光法による試験化合物の生体内分布の測定)。すなわち、470 nm でのピーク強度を基準値 1 として、670 nm でのピーク強度を算出することにより NOEt-P-Asp (I) のナトリウム塩の癌/臓器 (または血清) 濃度比を求めた。図 2 に薬剤投与後 1~24 時間後の結果を示す。NOEt-P-Asp (I) のナトリウム塩は腫瘍組織への集積性が高いことが確認された。

【0060】

実施例 7 :

ダンシルメチオニンを用いる光増感酸化反応の評価

【0061】

基質 (ダンシルメチオニン) 10  $\mu$ M をクロロホルム 1 ml に溶解し、本発明の光増感剤 (NOEt-P-Asp (I) Na 塩) 0.1  $\mu$ M を加え、攪拌下に Cold Spot PICL-SX (Nippon P. I. Co., Ltd.) (ハロゲンランプ、150W, 80,000 Lux) で照射した。光照射 1 分間毎に反応液を TLC 板 (Kieselgel 60 F254) にスポットし、クロロホルム-メタノール (3:2) で展開後、UV ランプ (254 nm) でダンシルメチオニンとその酸化生成物 (ダンシルメチオニン スルホキシド) を確認した。TLC 板上でダンシルメチオニンが完全に消失した時間を反応終了時

間とし、光増感剤の光酸化反応の強弱を比較検討した。

対照光増感剤として、Photofrin II（登録商標）を用いた。

【0062】

その結果を、表1に示した。表1の数値は、反応完了時間を分で示し、この値（分）が小さければ小さいほど光酸化反応が強いことを意味する。表中の結果からも明らかなように、本発明の光増感剤は、Photofrin II（登録商標）より光酸化反応が強いことを示している。

【0063】

【表1】

化合物名	光反応の強さ
Photofrin II（登録商標）	10<
NOEt-P-Asp(I) Na塩	4
NOEt-P-Asp(II) Na塩	4

【0064】

【発明の効果】

以上記載のように、本発明のポリマリン化合物は、腫瘍細胞への集積性、外部エネルギーに対する反応性ならびに腫瘍細胞の破壊作用を有し、しかも正常細胞に対して毒性を発現しないことより、動物用の腫瘍治療剤あるいは腫瘍診断薬として極めて有用である。

【図面の簡単な説明】

【図1】

本発明のNOEt-P-Asp(I)のナトリウム塩について、その赤外線吸収スペクトルを示す図である。

【図2】

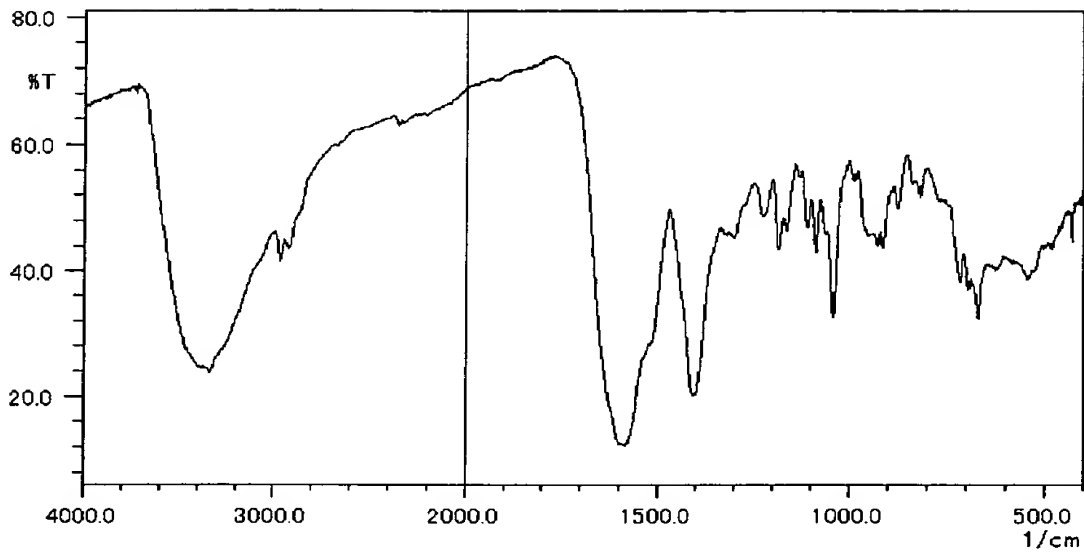
本発明のNOEt-P-Asp(I)のナトリウム塩について、その組織集積性（癌／臓器濃度比）の結果を示すグラフである。

グラフにおいて、曲線1は癌／脳；曲線2は癌／肝臓；曲線3は癌／肺；曲線4は癌／筋肉；曲線5は癌／腎臓；および曲線6は癌／血清の結果を示す。

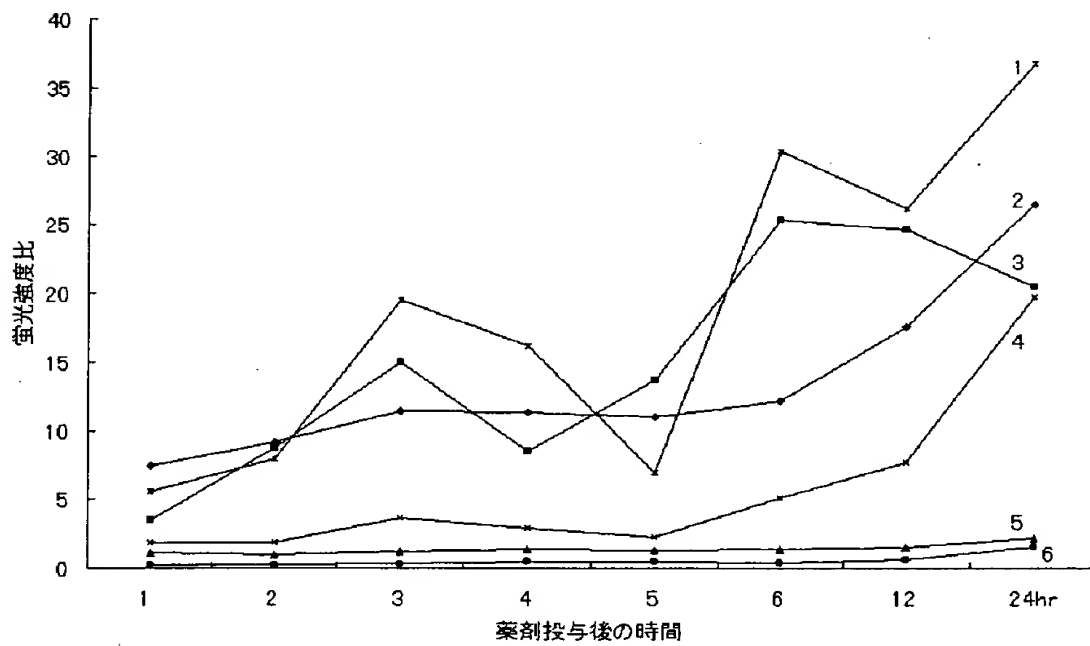
【書類名】

図面

【図 1】



【図 2】



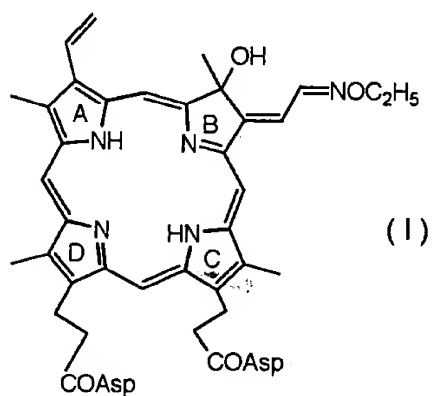
【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 動物用の光物理化学的診断および／または治療用に使用されるポルフィリン化合物、および動物用の光物理化学による診断および／または治療剤を提供する。

【解決手段】 次式 (I) :

【化 1】



(式中、A s p は、アスパラギン酸残基を表す。) で示される、動物用の光物理化学的診断および／または治療用に使用されるポルフィリン化合物またはその薬理学的に許容される塩。

【選択図】 図 1

認定・付加情報

特許出願の番号	平成 1 1 年   特許願   第 3 3 9 3 3 0 号
受付番号	5 9 9 0 1 1 6 5 7 4 0
書類名	特許願
担当官	第三担当上席                      0 0 9 2
作成日	平成 1 1 年 1 2 月    2 日

<認定情報・付加情報>

【提出日】	平成11年11月30日
-------	-------------

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [ 3 9 9 1 1 5 7 8 1 ]

1. 変更年月日 1 9 9 9 年 1 0 月 1 4 日  
[変更理由] 新規登録  
住 所 岡山県岡山市芳賀 5 3 1 9 番地の 1  
氏 名 株式会社光ケミカル研究所